

**NOVEL ANTIBIOTICS MAZETHRAMYCINS AND PROCESS THEIR PREPARATION****Publication number:** JP53082792**Publication date:** 1978-07-21**Inventor:** UMEZAWA HAMAO; TAKEUCHI TOMIO; HAMADA TADASHI; KUNIMOTO SETSUKO**Applicant:** MICROBIAL CHEM RES FOUND**Classification:**

- **International:** *C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/04; C12P17/14; C12R1/465; C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/00; C12P17/14; (IPC1-7): A61K31/395; C07D487/04; C12D9/14*

- **European:**

**Application number:** JP19760157479 19761228**Priority number(s):** JP19760157479 19761228[Report a data error here](#)**Abstract of JP53082792**

**PURPOSE:** Mazethramycins I (R is H or lower alkyl, esp. methyl or ethyl) and their anhydro cpds., e. g. mazethramycin A (R=H), mazethramycin B (R= methyl), mazethramycin C(R=ethyl) or anhydromazethramycin.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

## 公開特許公報

昭53-82792

⑤Int. Cl.<sup>2</sup>  
 C 07 D 487/04 //  
 A 61 K 31/395  
 C 12 D 9/14  
 (C 07 D 487/04  
 C 07 D 243/00  
 C 07 D 209/00 )

識別記号  
 16 E 61  
 30 G 133  
 30 H 52  
 36(2) D 531

⑥日本分類  
 6736-44  
 7432-44  
 5727-44  
 7110-49

⑦公開 昭和53年(1978)7月21日  
 発明の数 3  
 審査請求 未請求

(全24頁)

⑧新制癌抗生物質マゼスラマイシン及びその製造方法

⑨発明者 浜田雅  
 保谷市富士町1丁目7番3号  
 4

⑩特願 昭51-157479

同 国元節子

⑪出願 昭51(1976)12月28日

川崎市高津区宮崎2丁目6番11  
 号

⑫発明者 梅沢浜夫

⑬出願人 財団法人微生物化学研究会  
 東京都品川区上大崎3丁目14番  
 23号

東京都練馬区豊玉北4丁目23番  
 地

⑭代理人 弁理士 朝内忠夫 外3名

同 竹内富雄  
 東京都品川区東五反田5丁目1  
 番11号

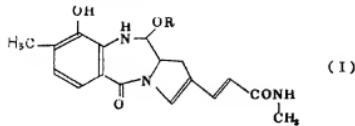
## 明細書

## 1 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスラマイシン及びその製造方法

## 2 特許請求の範囲

## 1 次の一般式(I)



(式中Rは水素原子または低級アルキル基、特にメチル基またはエチル基を示す)で表わされる化合物またはこれのアンヒドロ体である制癌抗生物質マゼスラマイシン化合物。

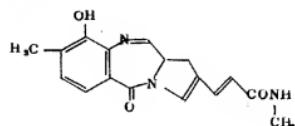
2 一般式(I)の化合物においてRが水素原子で表わされるマゼスラマイシンAである特許請求の範囲/項記載の化合物。

3 一般式(I)の化合物においてRがメチル基で

表わされるマゼスラマイシンBである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

4 一般式(I)の化合物においてRがエチル基で表わされるマゼスランマイシンCである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

5 一般式(I)の化合物のアンヒドロ体であつて次式(II)



で表わされるアンヒドロマゼスラマイシンである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

6 ストレブトミセス属に属するマゼスラマイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地で好気的に培養して、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスランマイシン化合物を採取することを特徴とする、抗

**NOVEL ANTIBIOTICS MAZETHRAMYCINS AND PROCESS THEIR PREPARATION**

**Publication number:** JP53082792

**Publication date:** 1978-07-21

**Inventor:** UMEZAWA HAMAO; TAKEUCHI TOMIO; HAMADA TADASHI; KUNIMOTO SETSUKO

**Applicant:** MICROBIAL CHEM RES FOUND

**Classification:**

**- international:** C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/04; C12P17/14; C12R1/465; C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/00; C12P17/14; (IPC1-7): A61K31/395; C07D487/04; C12D9/14

**- european:**

**Application number:** JP19760157479 19761228

**Priority number(s):** JP19760157479 19761228

[Report a data error here](#)

**Abstract of JP53082792**

**PURPOSE:** Mazethramycins I (R is H or lower alkyl, esp. methyl or ethyl) and their anhydro cpds., e. g. mazethramycin A (R=H), mazethramycin B (R= methyl), mazethramycin C(R=ethyl) or anhydromazethramycin.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

生物質マゼスママイシン化合物の製造法。

2. ストレプトミセス・オルテクス属 B 561-1-24 株 (微生物研究室第ヨミヨミ号) を培養液培地中でヨードナトリウムの濃度範囲で好気的に培養して、その培養物中にマゼスママイシン化合物を生産せしめる新規請求の範囲第 4 項記載の方法。

3. マゼスママイシン化合物生産菌の培養液から水非溶性の有機溶剤で抽出によってマゼスママイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 5 項記載の方法。

4. マゼスママイシン化合物生産菌の培養液から表面活性剤、特に活性炭または多孔質樹脂に吸着せしめてマゼスママイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 6 項記載の方法。

5. マゼスママイシン化合物を含有する粉末を採取し、この粉末をメタノール又はメタノールを含有する混合溶媒で抽出してマゼスママイシン B を採取する特許請求の範囲第 7 項記載の方法。

6. マゼスママイシン B を採取し、非極性溶媒中で脱水して、アンヒドロマゼスママイシン採取

特開昭53-82792(2)  
する特許請求の範囲第 8 項又は第 9 項記載の方法。

7. アンヒドロマゼスママイシンを採取し、含水溶媒に溶解して、マゼスママイシン A を採取する特許請求の範囲第 9 項記載の方法。

8. アンヒドロマゼスママイシンを採取し、エタノールを含有する溶媒に溶解して、マゼスママイシン C を採取する特許請求の範囲第 10 項記載の方法。

9. マゼスママイシン A またはアンヒドロマゼスママイシンをメタノールまたはエタノールと反応させることから成るマゼスママイシン B または C の製法。

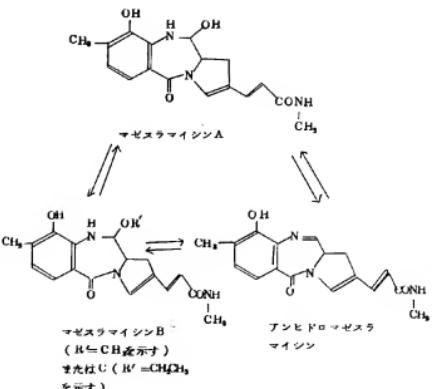
10. 発明の詳細な説明

本発明はストレプトミセス属に属する微生物を培養してその培養物から採取して得られる新規な制癌生物質マゼスママイシン (Mazethramycin) A, B, C およびアンヒドロマゼスママイシン (以下では、これら新規化合物を総称してマゼスママイシン化合物若しくは単にマゼスママイシンと言う) に関するものである。

マゼスママイシン化合物の製造方法に関するものである。

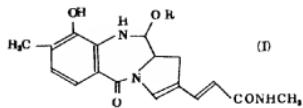
本発明者らによれば、昭和 47 年 10 月、東京都新宿区の土壌より分離された放線菌で、ストレプトミセス・オルテクスと同定された ME 561-1-24 株を用いてマゼスママイシンを蓄積せしめ、その培養物からマゼスママイシンを採取することによって、新規な制癌生物質マゼスママイシン A, B, C および又はアンヒドロマゼスママイシンを製造し得ることを知見した。

本発明に述べるマゼスママイシン A, B, C およびアンヒドロマゼスママイシンは下記の化学構造式をもつ化合物であると認められ、また適宜な溶媒による精練中で、次の反応式の如く相互に容易に変換する化合物である。

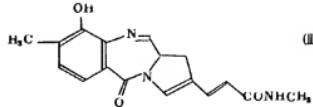


すなわち、マゼスママイシン A は非極性溶媒中で濃縮して脱水するとアンヒドロマゼスママイシンとなる。また、アンヒドロマゼスママイシンは

すなわち、第一の本発明の要旨とするところは、次の一般式(I)



(式中Rは水素原子、メチル基、またはエチル基である)、で表わされる化合物、またはこれのアンヒドロ体、すなわち次式(II)



の化合物であるマゼスママイシン化合物である。

本発明に係る新制癌生物質マゼスママイシンの性状は次に示すとおりである。

含水溶媒中で容易にマゼスママイシンAに変換する。不安定なマゼスママイシンAまたはアンヒドロマゼスママイシンは、アルコール性溶媒、すなわちメタノール含有溶媒中で、メタノールと反応する結果容易に安定なマゼスママイシンB、またはエタノール含有溶媒中で、エタノールと反応する結果安定なマゼスママイシンCとなる。従つて、マゼスママイシン化合物は水性の培養液中では大部分マゼスママイシンAとして存在することが考えられるが、マゼスママイシン化合物の採取のために抽出精製する際にアルコール性溶媒を使用してより安定なマゼスママイシンBまたはマゼスママイシンCとして採取することが好ましい。マゼスママイシンA、B、Cおよびアンヒドロアンスママイシンは、いずれも細胞、かび類に抗腫瘍作用を示し、特にマックス白血病レース-1210細胞およびある種の癌細胞の発育を強く抑制する新抗生素質で、いずれもそれらの作用に本質的差異は認められず、適宜なマゼスママイシン化合物をそれぞれ同様に制癌剤として用いることができる。

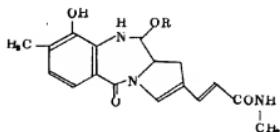
(I) マゼスママイシンAは板黄色粉末、融点181～193℃(分解)。 $(\alpha)_D^{25} +730$ ℃(c 0.062, ジメチルホルムアミド)、紫外部吸収スペクトル曲線は第1図に示す通りである。 $\lambda_{max}^{CH_3CN}$  m $\mu$ (ε) : 320(弱3.4600), 333(3.9400)である。呉化カリ試で測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第2図に示すとおりである。元素分析は実験値: C 6.3.3%、H 6.1%、N 2.40% O 16.9%、理論値(C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 6.2.9%、H 6.1%、N 2.24%、O 1.864%である。メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、酢酸エチル、アセトニトリル、クロロホルムには溶解するが、酢酸ブチル、ベンゼン、エーテルには難溶である。呈色反応は、フアストブルーB反応でレンガ色に呈色する。エールリツヒ、坂口、ライドン-スマス反応は陰性である。シリカゲルの薄層上で、約10時間放置することにより褐色を呈してくる。シリカゲルの薄層クロマトグラフィーで、クロロホルム-メタノール(10:1)の展開系でRfは0.21である。紫外部吸収スペクトル曲線(320/ε)は第3図に示すとおりで、アルカリ溶液中では長波長側へのシフトが認められる。強大吸収は、メタノール溶液中で215 m $\mu$ (ε 25,600)

(II) マゼスママイシンBは黄色針状晶で明確な融点を示さず245～270°付近で分解する。比旋光度は $(\alpha)_D^{25}=+900$ °(c 0.2, ジメチルホルムアミド)の値を得た。元素分析は実験値: C 6.3.3%、H 6.1%、N 2.40% O 16.9%、理論値(C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 6.2.9%、H 6.1%、N 2.24%、O 1.864%である。メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、酢酸エチル、アセトニトリル、クロロホルムには溶解するが、酢酸ブチル、ベンゼン、エーテルには難溶である。呈色反応は、フアストブルーB反応でレンガ色に呈色する。エールリツヒ、坂口、ライドン-スマス反応は陰性である。シリカゲルの薄層上で、約10時間放置することにより褐色を呈してくる。シリカゲルの薄層クロマトグラフィーで、クロロホルム-メタノール(10:1)の展開系でRfは0.21である。紫外部吸収スペクトル曲線(320/ε)は第3図に示すとおりで、アルカリ溶液中では長波長側へのシフトが認められる。強大吸収は、メタノール溶液中で215 m $\mu$ (ε 25,600)

23.5 m $\mu$  ( $\epsilon$  22,200) および 3.34 m $\mu$  ( $\epsilon$  46,100) である。0.1 N 水酸化ナトリウム含有メタノール溶液中では、25.8 m $\mu$  (肩  $\lambda$ , 200) および 3.51 m $\mu$  ( $\epsilon$  43,400) である。

奥化カリ錠で測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第4回図に示すとおり、3330, 3120, 2950, 1660, 1630, 1610, 1365, 1315, 1465, 1410, 1370, 1345, 1315, 1250, 1220, 1170, 1145, 1070, 1025, 990, 955, 940, 910, 880, 855; 820, 760  $\text{cm}^{-1}$  に主な吸収帯を有する。重ジメチルスルホキシサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは第5回図に示すとおりである。マゼストラマイシンBはその紫外部吸収スペクトル、赤外部吸収スペクトルおよび核磁気共鳴スペクトルからアラントラマイシン(ジヤーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサエティ 67巻 5779/1頁～5779/5頁 1965年)ときわめて類似の化合物である。核磁気共鳴スペクトルにおける2重共鳴法よりアレン

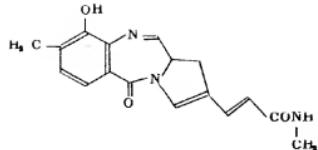
特開昭53-28792号  
スマイシン・メチルエーテルの構造であるアクリルアミド部分がN-メチル(2.05 ppm)化された化合物であることが推定される。さらにアンスラマイシン・メチルエーテルのマススペクトルに特徴的に見られる脱メタノールピークはマゼスマイシンBの高分解能マススペクトルに認められ、さらにマゼスマイシンBの酸加水分解(1%規定塩酸、加熱還流2時間)物中にガスクロマトグラフィーによりメチルアミンが検出されることから、マゼスマイシンA<sub>B</sub>およびCはそれぞれ下記の構造を有する新規な化合物であることを確認した。



1.94% (C 0.03), ジメチルホルムアミド)。紫外外部吸収スペクトル曲線は第8図に示す通りである。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}} (\text{m} \mu): 229 (16,100)$ , 235 (肩/3,800), 298 (肩/9,300) 315 (21,800), 352 (21,100) である。臭化鉄-錠で測定した赤外部吸収曲線は第9図に示すとおりである。元素分析は実験値: C 63.04%, H 6.10%, N 3.04%, O 16.38%, 理論値 (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>): C 63.53% H 5.50%, N 3.30%, O 15.42% であつた。高分解能マススペクトルで分子ピーグ (実験値 311, 125, 計算値 311, 124) が観察された。東ジメチルスルホキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルはマゼスラマイシンBのそれと比べ、-OCH<sub>3</sub>のシグナル (δ 3.44 ppm) が消失し、アゾメテンのシグナル (δ 8.15 ppm) が観察された。アンヒドロマゼスラマイシンは下記の構造を有するマゼスラマイシンAの脱水体であることを確認した。

(ii) マゼスマライシン C は淡黄色結晶性粉末で融点  $216 \sim 223^{\circ}\text{C}$  (分解),  $(\alpha)_D^{25} +450$  ( $c 0.6$  ツメチルホルムアミド)。紫外部吸収スペクトル曲線は第 6 図に示す通りである。  
 $\text{CH}_3\text{CN}$   $m\mu$  ( $\epsilon$ ) :  $217 (23,700)$ ,  $233$  ( $\lambda 9,300$ ),  $333 (43,600)$  である。臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第 7 図に示すとおりである。元素分析は、実験値 C 6.3.2%, H 6.5%, N 1.2.5%, O 15.8.3%, 理論値 ( $\text{C}_6\text{H}_11\text{N}_3\text{O}_4$ ) : C 6.3.8% H 6.4%, N 1.7.6%, O 17.7% であつた。臭ジメチルスルホキサイド浴液で測定した核磁気共鳴スペクトルは、マゼスマライシン B のそれと比べ、エチル基のシグナル ( $-0\text{CH}_2-$ , 3.6 ppm :  $-\text{CH}_3$ ,  $\delta/1.5$  ppm) が観察された。

46 アンヒドロマゼスマライシンは、淡黄色結晶で、融点252~262°C(分解),  $[\alpha]_n^{25} +$



なお、アンヒドロマゼスマライシンをメタノール、エタノール、プロピルアルコール、ブタノール等の低級アルカノール中に溶解すると、紫外外部吸収スペクトルの変化より、アルコール付加物となつていることが確認された。しかし、メタノール、エタノール付加物であるマゼスマライシンBおよびC以外のアルコール付加物は不安定で、減圧下に加熱乾燥(約50℃)するとアンヒドロマゼスマライシンにもどることが認められた。

マゼスマライシン A, B, C ならびにアンヒドロマゼスマライシンの各々の蒸発昇天上の最低阻止濃度は第 1 表に示すとおりである。

マゼスマライシン A, B および C のマウスの白血病に対する治療効果をみるとため、マウスの腹腔に  $10^5$  個/マウスの率で L-1210 細胞を移植後、マゼスマライシン A, B, C の各々を腹腔内注射で連続 10 日間投与すると悪性腫瘍に示す様な縮小効果を示した。

## 実験表

投与量 (mcg/マウス/日)	生存率 (%)
1.25	20.5
0.63	24.0
0.31	16.4
0.16	16.4
0.08	12.3

但し生存率は次式によつて計算した。

$$\text{生存率}(\%) = \frac{(\text{処理マウスの生存日数})}{(\text{未処理マウスの生存日数})} \times 100$$

マゼスマライシン A, B, C ならびにアンヒドロマゼスマライシンの各々の急性毒性はノルメタノール水溶液をマウスの腹腔内に投与して LD<sub>50</sub>

0.875/kg である。

なお、本発明におけるマゼスマライシン A, B, C およびアンヒドロマゼスマライシンの間では、これらの生物学的性質はそれぞれ本質的差異を示さない。

第二の本発明の要旨とするところは、ストレプトミセス属に属するマゼスマライシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好気的に培養して、その培養物中にマゼスマライシン化合物を採取することを特徴とする、抗生素質マゼスマライシン化合物の製造法である。

第二の本発明で使用されるマゼスマライシン化合物生産菌の一例としては、ストレプトミセス・チオルテウス M-61-84 株がある。 M-61-84 株の菌学的性状は次に示すとおりである。

## 1. 形態

M-61-84 株は顯微鏡下で、分枝した基中菌糸より輪生枝をもつた気菌糸を伸長し、螺旋形成はみとめられない。成熟した孢子頭は 10 個

以上の孢子の連鎖をみると、孢子の大きさは  $1.0 \sim 1.2 \times 0.4 \sim 0.5$  ミクロン位で、孢子の表面は平滑である。

## 2. 各種培地における生育状態

色の記載について ( ) 内に示す標準は、コンティナー・コードレーション・オブ・アメリカのカラー・ハーモニー・マニュアルを用いた。

## (1) シュクロース・硝酸塩寒天培地 (2.7% 培養)

無色の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

## (2) グルコース・アスパラギン寒天培地 (2.7% 培養)

無色～うす黄～にぶ黄 (1/2 M, Antique Gold) の発育上に、白～黄味灰 (1/2b, parchment ~ 2cb, Ivory Tint) の気菌糸を着生し、溶解性色素はわずかに黄色味をおびる。

## (3) グリセリン・アスパラギン寒天培地 (1SP-培地 2, 2.7% 培養)

うす黄～うす黄茶 (3ng, Yellow Maple) ～ 黄茶 (3pi, Golden Brown) ～ #pi Oak Brown) の

発育上に、白～黄味灰 (1/2a, Yellow Tint ~ 2ba, Pearl) の気菌糸を着生し、溶解性色素は茶色味を呈する。

## (4) スターチ・無機塩寒天培地 (1SP-培地 2, 2.7% 培養)

無色～うす黄茶 (3ng, Yellow Maple) の発育上に、白～黄味灰 (2cb, Ivory Tint) の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後 5 日目位からわずかに黄色味をおびる。

## (5) チロシン寒天培地 (1SP-培地 2, 2.7% 培養)

うす黄～うす黄茶 (2pi ~ 2ni, Mustard Brown) ～ 喜い黄茶 (3pi, Deep Brown) の発育上に、白～黄味灰 (1/2a, Yellow Tint ~ 2ba, Pearl) の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味～茶色味を呈する。

## (6) 栄養寒天培地 (2.7% 培養)

うす黄～うす黄茶 (3ng, Yellow Maple) の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

## (7) イースト・麦芽寒天培地 (1SP-培地 2, 2.7% 培養)

培養)

うす黄茶～黄茶〔Jani, Clove Brown〕の発育上IC、白～黄灰灰〔1 ch, parchment～2 ch, Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は、わずかに茶色味をおびる。

(4)オートミル寒天培地 (ISP-培地3, 27℃培養)

うす黄～うす黄茶の発育上に、白～黄灰灰

〔2 ch, Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

(5)グリセリン、硝酸塩寒天培地 (27℃培養)

無色～うす黄の発育上に、白～黄灰灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素はみとめられない。

(6)スター寒天培地 (27℃培養)

無色～うす黄茶〔Jani, Yellow Maple〕の発育上IC、白～黄灰灰〔2 ch, Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後ノリ日目位からわずかに黄色味をおびる。

(7)リンゴ酸石灰寒天培地 (27℃培養)

無色の発育上IC、白～黄灰灰〔1 ch, Yellow

時間 0753-827927  
Tint ~ 2 ba, pearl〕の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

(8)単純ゼラチン寒天培地 (27℃培養)

発育はうす黄～うす黄茶、気菌糸は培養後ノリ日頃から着生し、黄灰灰を呈する。溶解性色素は培養後ノリ日頃からわずかに黄色味をおびる。

(9)グルコース・ペプトン・ゼラチン寒天培地 (27℃培養)

ICぶ黄～うす黄茶の発育上に、黄灰灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素は黄色味をおびる。

(10)脱脂牛乳 (27℃培養)

うす黄～ぶ黄の発育上に、白～黄灰灰の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

(11)セルロース (27℃培養)

発育は無色。気菌糸は着生せず、溶解性色素もみとめられない。

生理的性質

(1)生育温度範囲

スター・イースト寒天 (可溶性糖分10%)、

前母エキス0.2%、紙寒天3.0%、pH 7.0)を用いて、20℃、24℃、27℃、30℃、37℃、50℃の各温度で試験の結果、50℃を除いて、そのいずれの温度でも牛乳するが、最高温度は27℃～30℃付近と思われる。

(2)ゼラチンの液化 (1/3単純ゼラチン、20℃培養; グルコース・ペプトン・ゼラチン、27℃培養)

単純ゼラチンの場合は、培養後ノリ日頃から液化がみられるが、その作用は中等度～弱い方である。グルコース・ペプトン・ゼラチン培地では、培養後3週間を経過しても液化がみとめられなかつた。

(3)スターの加水分解 (スター、無機塩寒天及びスター寒天、何れも27℃培養)

培養後ノリ～ノリ日頃から水解性がみとめられるが、その作用は強めて弱い方である。

(4)脱脂牛乳の凝固、ペプトン化 (脱脂牛乳、27℃培養) 培養後3日目に凝固が完了し、後ペプトン化が始まり、培養後ノリ日目にペプトン化がほ

ぼ完了する。革固、ペプトン化ともにその作用は弱い方である。

(5)メラニン様色素の生成 (トリプトン・イースト・プロテオ、ISP-培地1; ペプトン・イースト・鉄寒天、ISP-培地4; チロシン寒天、ISP-培地7, 何れも27℃培養)

トリプトン・イースト・プロテオではメラニン様色素の生成はみとめられず、ペプトン・イースト・鉄寒天及びチロシン寒天の場合もわずかに褐色の溶解性色素を呈する程度で、おそらく陰性と思われる。

(6)炭素源の利用性 (ブリドハム・ゴトリープ寒天、Isp-培地4, 27℃培養)

グルコースを利用して発育し、イノシトールはおそらく利用していると判定され、レーアラビノース、D-キシロース、D-フラクトース、シュクロース、L-ラムノース、ラフィノース、リーマンニトールは利用しない。

(7)リンゴ酸石灰の溶解 (リンゴ酸石灰寒天、27℃培養)

リンドウ酸石灰の溶解はみとめられない。

## ④硝酸塩の還元反応（1%硝酸ソーダ含有ペプトン水、18P-培地 $\pm$ 、27℃培養）

険性である。

以上の性状を要求するとMR561-8株はストレプトミセス菌に異し、菌糸は輪生枝を有し、葉序形成はみとめられず、胞子の表面は平滑である。種々の培地で発育はうす黄～うす黄茶～黄茶、気管糸はおむね黄灰茶を呈し、溶解性色素は無色～黄色～茶色を呈する。メラニン様色素は陽性、蛋白分解は中等度～強い方、スターチの水解性は極めて弱い方である。

これららの性状及びこの菌株がオーレオストライシンを発生する点より既知菌種を検索すると、M.B. 561-8株に最も近縁の種としてストレプトミセス、チオルテウス

(*Streptomyces thioluteus* 文獻 / International Journal of Systematic Bacteriology 22巻、362頁、1972；文獻 2 The Japanese Medical Journal / 卷、5 / 2頁、1948) があげられ

る。次に実験にストレプトミセス・チオルテウス ISP 5027 株を入手し、ME 561-E 株と比較検討した成績の大要を示すと次の第 3 表の如くである。

江川(1)： 江川先生、 何がそらく一を意味する。

百、/ 94 / 2) Electromicrograms of Actinomycetes No/

/ 6 © The Society for Actinomycetes, Japan 1965, 3)

International Journal of Systematic Bacteriology, 22g, 1972

上記のごとくストレプトミセス・チオルテウス ISP 5027 株は放菌糸を着生せず、その形態学的性状は不明であつたが、文献によれば発生枝を有する白あるいは黄味白の放菌糸を形成するところ、ME 561-8# 株と同様である。

一方 ME 561-8# 株はストレプトミセス・チオルテウス ISP 5027 株と比較し、グルコース・ペプトン、ゼラチン、硝酸塩の還元反応で異なるが、その他の点では大差なく一致している。

よつて、ME 561-8# 株をストレプトミセス・チオルテウス (*streptomyces thioluteus*) ME 561-8# と同定した。

なお、この ME 561-8# 株は工業技術院微生物工業技術研究所に昭和51年11月27日にストレプトミセス ME 561-8# の名称で保管委託申請し、申請書受理番号は第3825号である。

放菌糸は人工的に、又自然界で変異をおこしやすいが、本発明にいうストレプトミセス・チオルテウス ME 561-8# はそれらの変異株のすべ

てを包括する。本発明にいうこれらの菌糸はマゼスマライシン化合物を生産し、不発育およびその変異株と明確に区別されない菌はすべてこれを包含する。

第二の本発明の方法を実施するに当つては、マゼスマライシン生産菌の胞子または菌糸を炭素源含有培地に接種して、好気的に発育させることによつて、マゼスマライシン化合物、特にマゼスマライシン A を含む培養液が得られる。炭素源としては放菌糸の炭素源として用いられる公知のものはすべて使用できる。例えばグルコース、マルトース、デキストリン、澱粉、ラクトース、サツカロース、ガラクトース、グリセリン、大豆油等を炭素源として利用できる。その例を表1に示す。ペプトン 0.7%、肉エキス 0.7%、NaCl 0.3%、CaCO<sub>3</sub> 0.2%、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1%、CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.00056%、FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00008%、MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.00064%、ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00016%を含む培地を基礎培地として、上記の炭素源を下記の濃度に添加した培地 125 ml を 500 ml 容の振

ロフラスコに分注して、120℃で20分間、加圧滅菌して冷却し、これに、放菌糸 ME 561-8# 株の培養から胞子および菌糸を接種し、27℃で好気的に振盪培養した時、培養3日目または4日目のマゼスマライシン化合物の生産量は表1に示す通りである。

表 1

炭素源の種類と濃度	培養日数	生産量
グリセリン 2.5%	3日	130 ± 9 mg
グルコース 2%	3	93
ガラクトース 2%	3	3
ラクトース 2.5%	3	7
デキストリン 2%	3	13
マルトース 2%	3	9
サツカロース 2%	4	5
グルコース 1%	3	46
澱粉 1%		
大豆油 2%		
澱粉 0.5%	3	28
グルコース 0.5%		

上記の様に、いずれの炭素源もこれらの化合物の生産に利用できるが、特にグリセリン、グルコースが好適な炭素源である。

炭素源としてはマゼスマライシン化合物の生産のために、放菌糸の炭素源として用いられる公知の炭素源はすべて利用できる。例えばペプトン、肉エキス、澱粉エキス、大豆粉、大豆油、コーンステイプル、澱粉、魚粉、カゼミノ酸、N-Z-アミン等が利用できるが、その一例を表2に示す。上記の様にグルコース 1%、澱粉 1%、NaCl 0.3%、CaCO<sub>3</sub> 0.2%、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1%、CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.00056%、FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00008%、MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.00064%、ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00016%を含む培地を基礎培地として、下記の濃度になる様に炭素源を添加して滅菌し、これに前記の液体培地に発育せしめた胞子または菌糸を接種して3日間または4日間振盪培養した時のマゼスマライシン化合物の生産量は表2に示す通りである。

第 5 表

培養液の種類と濃度	培養日数	生産量
肉エキス 0.73%	3	150μg/ml
ペプトン 0.75%		
酵母エキス 0.2%		
大豆粉 2.5%	3	22
酵母エキス 0.5%		
大豆粉 2.0%	4	31
大豆粉 1.5%	3	23
(プロリツチ)		
コーンステイアーリカ - 2.0%	3	36
柑実粉 1.5%		
レーナスパラギン 0.2%	3	14
魚粉 2.0%	3	46
酵母エキス 0.5%		
カザミノ酸 0.5%	3	38
酵母エキス 0.3%		
レーナスアミン 1.0%	3	5
大豆粉 (プロリツチ) 2.0%		
ペプトン 0.2%	4	73

上記の様に、いずれの培養液も利用できるが、特に、肉エキス、ペプトンが好適な培養液である。マゼスマライシン化合物を生産せしめるために必要とするならば無機塩、金属塩、重金属塩の微量を加える。又培養中に消泡を必要とする時はシリコン樹脂、大豆油、アデカノール等の消泡剤を使用できる。

マゼスマライシン化合物の大量生産には液体培養が好適しく、培養適度は生産率が発現し、マゼスマライシン化合物を生産する範囲で適用し得るが、殊に好ましいのはヨメタミセビである。培養は普通マゼスマライシン化合物が充分蓄積されるまで継続される。例えばクリセリン 1.5%, 継実粉 1.5%, NaCl 0.3%, L-アスパラギン 0.2% の培地を pH 7.4 に調整し、これに放線菌 ME 36-1-84 株の斜面培養から胞子および菌糸を接種し、ヨメタミセビで好気的に液体培養を行つたところ、培養 2~4 日目に目的の抗生物質の最高の蓄積が見られる。

マゼスマライシン化合物の定量は試験曲線として

バチルス・サブチリス PC1414などを使用して、抗生物質の定量に用いられる通常の円筒平板法によつて行ない、本発明で得られた純粋なマゼスマライシン B を標準物質に用いる。培養液中に他の抗生物質例えばチオルチン、オーレオストリシンなどが同時に生産される時は、その培養液を酢酸エチルなどの溶媒に抽出し、残りの水層を上記の円筒平板法によつて測定することにより、マゼスマライシン化合物を定量することができる。この場合、マゼスマライシン化合物も酢酸エチルなどの溶媒に一様移行するので、マゼスマライシンを対照として同じように操作し、標準曲線を作製し、これにより定量することができる。

マゼスマライシン化合物の生産菌の培養液からこの抗生物質を抽出するには、ブタノールなどの水非溶性性有機溶媒を使用する溶剤抽出法および活性炭などを吸着剤として使用する吸着法によつて行なわれる。マゼスマライシン B のブタノール-水における分配係数は、pH 6~7 の範囲で 1.0 以上を示す。従つて、この pH 範囲で培養物

中よりマゼスマライシン化合物を抽出することができる。また、培養液中のマゼスマライシン化合物を抽出するに当り、吸着剤として、活性炭および非イオン交換性多孔質樹脂などを用いることは、有効である。特にジビニルベンゼンで架橋したポリスチレン樹脂、アンバーライト XAD-2 や米国ロームアンド・ハース社製を用いるカラムクロマトグラフィーを行うことは好ましく、XAD-2 によく吸着した抗生物質はメタノール水、エセトン水などで溶出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体等固形分中のマゼスマライシン化合物は通常もろいられる有機溶剤例えばメタノール、エタノール、アセトン、ブタノール等で抽出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体を含む培養液から菌体を除くことなくマゼスマライシン化合物がよく溶ける溶剤、例えばブタノールに液体部分および菌体部分のマゼスマライシン化合物を抽出することもできる。上記の様にして得た抽出乾固物はエチルエーテル、ノルマルヘキサン等で処理すると、マゼスマライシン化合物は不溶部に移行

する。さらにこの不溶部をメタノールで抽出するところが層にマゼスマライシン化合物は抽出され、残りは不純物として除かれる。マゼスマライシンはこれらの抽出法を適宜に組合せあるいは組合すことによつて精製することができるが、更にセファデシクスLH-20(ファルマシア社製)、セルロースおよびシリカゲルなどを用いる通常のカラムクロマトグラフィーによつて精製される。培養物中にしばしば共存する既知抗生素チオカルテンおよびオーレオスリシンは上述のエチルエーテル、ノルマルヘキサン等による処理またはシリカゲルのカラムクロマトグラフィーによつて容易にマゼスマライシン化合物と分離することができる。

上記した抽出精製処理は必要に応じて単独或いは任意に組み合わせることにより、マゼスマライシン化合物を精製することができる。マゼスマライシンA、B、Cを非極性溶媒中で加熱煮沸して脱水することにより、アンヒドロマゼスマライシンが得られる。ここで用いられる非極性溶媒としては、例えば、アセトン、アセトニトリル、酢酸

エチル、クロロホルム等である。アンヒドロマゼスマライシンを水または含水の非アルコール性溶媒に溶解すると、水が添加されてもマゼスマライシンAが得られる。マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールに溶解するとメタノールが反応して比較的の安定なマゼスマライシンBに変換することができる。同様に、マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをエタノールに溶解すると、エタノールが反応して比較的の安定なマゼスマライシンCが得られる。

併つて、第三の本発明の要旨とするところは、マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールまたはエタノールと反応させることからなる、マゼスマライシンBまたはCの製造法にある。

マゼスマライシン生産菌の培養液からマゼスマライシンを採取するため、上記抽出精製法を有効に組合せた一例をあげると次の通りである。培養液をD日まで精製し、メタノールで、抗生素を抽出し、水を加えて減圧下に40℃以下で

濃縮しメタノールを完全に除去し水浴窓とする。これをpH 8.0に調整しアンバーライト XAD-2の塔に通じさせ、充分水洗後50%アセトン水で抽出される。これを減圧下に40℃以下で濃縮乾固して粗粉末を得る。これを少量のメタノールに落し、メタノールに不溶の夾雑物は遠心分離または戻過により除きシリカゲルを加え、均一に混合した後乾燥したものを、シリカゲルを展開溶剤で展開してつめたカラムの頂部に置き、次にクロロホルム-メタノール(100:5容)で展開する。活性溶出部を濃縮後メタノールに溶解し、溶媒瓶に放置すると、黄色針状晶としてマゼスマライシンAを得ることができる。

夾雑物が多く結晶が析出しづらい時はシリカゲルの再クロマトグラフィーを展開溶剤に酢酸エチルを半量で行い、活性溶出部を濃縮後メタノールに溶解し、溶媒瓶に放置するとマゼスマライシンAの結晶を得ることができる。

以下に、マゼスマライシン化合物の製造法に関する実施例を示すが、本発明により、マゼスマ

ライシンA、B、Cおよびアンヒドロマゼスマライシンの性状が明らかにされたのでこの性状に基づいてマゼスマライシン化合物の製造法を種々考案することができる。

併つて、本発明は実施例に限定されるものではなく実施例の修飾手段は勿論、本発明によつて明らかにされたマゼスマライシン化合物の性状に基づいて公知の手段を兼してマゼスマライシンA、B、Cおよびアンヒドロマゼスマライシンを生産、濃縮、抽出、精製する方法をすべて包括する。

#### 実施例1

東洋斜面培地に培養した放線菌M-561-844(微生物研究室3号25号)をグリセリン1/5量、細胞粉1/5量、レーナスパラギン0.2%、食塩0.3%を含む液体培地に接種し、27℃で48時間振盪培養して1次種培養を得た。次に上記組成の液体培地250mlを500ml容量の坂口フラスコに2.5mlずつ分注したのにもう1次種培養液1mlずつを接種し、27℃で4日間振盪培養した。pH 7.6の培養液は4.6mg/mlを得た。細胞は4.6mg/ml

(全量 21.6 mg) の量でマゼスママイシン化合物を含んでいた。沪過で分けられた液体はヨリタモで 6.0 mg のマゼスママイシン化合物を含んでいた。上記培養液 4740 ml の pH を水酸化ナトリウムで 8.0 に調整し、50.0 ml のメタノールを加えて攪拌抽出し、減圧濃縮し、精製水 1600 ml に溶解した。マゼスママイシン化合物のヨリタモはあたる 1/40 倍がメタノール抽出により得られ、その水溶液の pH は 6.5 であつた。水酸化ナトリウムで pH を 7.0 に調整し、アンバーライト XAD-2 (400 ml、3.2 × 50 口) のカラムを通過させた。カラムを精製水 3000 ml で通過させることにより洗浄し、50.0 ml のアセトン水 3000 ml により、マゼスママイシン化合物を溶出せしめ、減圧下で濃縮乾固し、1/40 倍の褐色粉末を得た。1/80 倍のマゼスママイシン化合物 (マゼスママイシン A が主体) を含有したこの褐色粉末を少量のメタノールに溶解し、シリカゲル (ワコダル C-200) 40 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これをタクロロホルムでシリカゲル

50.0 ml を懸濁してつめたカラム (内径 2.0 cm) の頂部に撒く。次にタクロロホルム-メタノール (50 : 1 容) 25.0 ml を通過させ、次にタクロロホルム-メタノール (2.0 : 1 容) で展開し、1/40 倍の分画採取する。分画ヨリタモにマゼスママイシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮して、マゼスママイシン B 1/40 倍を含有する黄土色粉末 1/10 倍を得た。収率は 3.0 % であつた。

## 実施例 2

実施例 1 で得られた黄土色粉末 1/10 倍を 6.0 ml で 50.0 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスママイシン B の針状結晶 4.6 mg を得た。結晶化の収率は 6.5 % であつた。

## 実施例 3

実施例 1 と同様の方法で得た乾燥粉末 1/10 倍をメタノール 10 ml に溶解し、シリカゲル 1/40 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これを酢酸エチルでシリカゲル 1/40 倍を懸濁してつめたカラム (内径 1.0 cm) の頂部に撒く。次に酢酸エチル 600 ml で展開し、1/40 倍の分画採取する。

分画ヨリタモにマゼスママイシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮し、6.0 ml のマゼスママイシン B の純度が乾燥粉末を得た。これを、加熱しながら 6 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスママイシン B の結晶 4.0 mg を得た。

## 実施例 4

寒天斜面培地に培養した放線菌 M-E-561-84 株 (微生物菌庫第 33 号 25 株) をグリセリン 25 ml、牛肉エキス 5.0 g、ポリペプトン 0.5 g、酵母エキス 1.0 g、食塩 0.2 g、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.05 g、沈降性胆酸カルシウム 0.3 g を含む液体培地 5 l を、50.0 ml 容のワツフル付三角フラスコビ 1/10 ml ずつ分注したものを用いて、27 ℃、4 日間回転培養した。pH 5.6 の培養液 55.0 ml および菌体 1/16.0 g を得た。菌体はメタノール 25.0 ml を加えて攪拌抽出し、抽出液を減圧濃縮し、水 3000 ml に溶解し、培養液と合わせた。以下、実施例 1 と同様の方法でメタノール抽出、アンバーライト XAD-2 処理を行ない、2.0 倍の粗粉末を得た。この粗粉末を

安所例 1 の 2 倍のスケールでシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、マゼスママイシン B を含む分画を集めて、減圧濃縮し、1/30 倍のマゼスママイシン B の純度が粉末を得た。これをジメチルホルムアミド 2 ml を加えて溶解し、メタノール 3 ml を加えて、冷却し、マゼスママイシン B の針状結晶 6.0 mg を得た。

## 実施例 5

マゼスママイシン B の結晶 1/20 倍をアセトニトリル 100 ml に溶解し、液槽器のアンバーライト CG-50 を添加して、1 時間振盪した。アンバーライト CG-50 をグラスフィルターで汎過して除去し、アセトニトリルを減圧濃縮により除去していくと、針状結晶が析出した。これをアセトニトリルより再結晶し、6.0 mg のアンヒドロマゼスママイシンの結晶性粉末を得た。

なお、マゼスママイシン C の結晶 6.0 mg をアセトニトリル 50 ml に溶解して上記と同様に処理すると、3.0 mg のアンヒドロマゼスママイシンの結晶性粉末を得た。

実施例6で得られたアンヒドロマゼスママイシンの5.0gを5.0mlアセトン水5.0mlで溶解し、減圧下濃縮すると、マゼスママイシンAを得た。

## 実施例7

実施例6で得られたマゼスママイシンAの5.0gを1.0mlのメタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスママイシンBの結晶5.0gを得た。

## 実施例8

マゼスママイシンAの5.0gを1.0mlのエタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスママイシンの結晶5.0gを得た。

## 実施例9

実施例8で得られたアンヒドロマゼスママイシンの5.0gを1.0mlのメタノールに溶解し、減圧下濃縮して、マゼスママイシンBの結晶5.0gを得た。

## 実施例10

実施例9で得られたアンヒドロマゼスママイシンの5.0gをエタノール3.0mlに溶解し、減圧下

濃縮して、マゼスママイシンCの結晶性粉末2.4gを得た。

## 4. 図面の簡単な説明

第1図はマゼスママイシンAの5.0g/mlのアセトニトリル溶液中での紫外外部吸収スペクトル曲線を示す。第2図はマゼスママイシンAの臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第3図はマゼスママイシンBの5.0g/mlの1.0メタノール溶液および0.1N水酸化ナトリウム含有1.0メタノール溶液中での紫外外部吸収スペクトル曲線を示す。第4図はマゼスママイシンBの臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第5図は、マゼスママイシンBの東シメチルスルフォキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトル曲線を示す。

第6図はマゼスママイシンCの5.0g/mlのアセトニトリル溶液中での紫外外部吸収スペクトル曲線を示す。

第7図はマゼスママイシンCの臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第8図

はアンヒドロマゼスママイシンの5.0g/mlのアセトニトリル溶液中での紫外外部吸収スペクトル曲線を示す。第9図はアンヒドロマゼスママイシンの臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。

代理人 朝 内 忠 夫



代理人 八木田 五

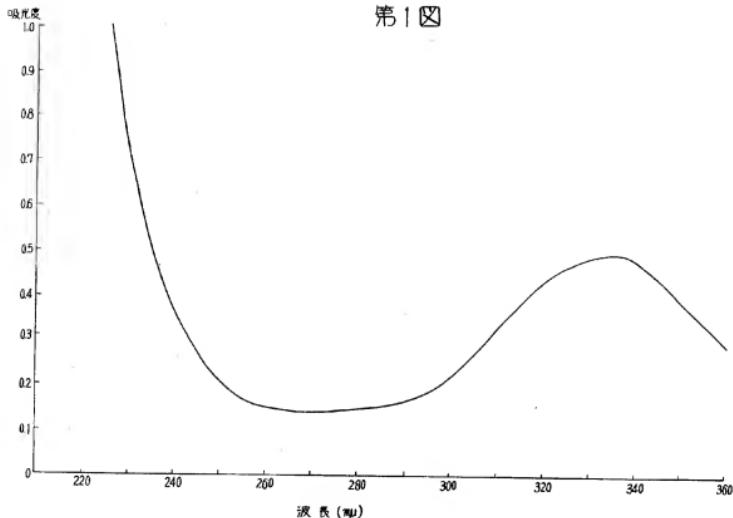


代理人 浜 野 孝 雄

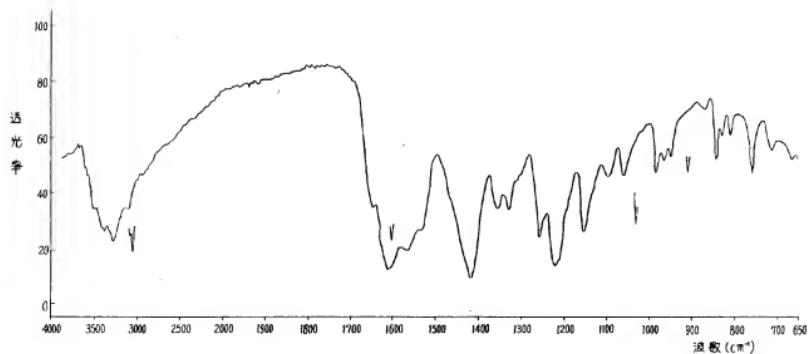


代理人 義 田 一

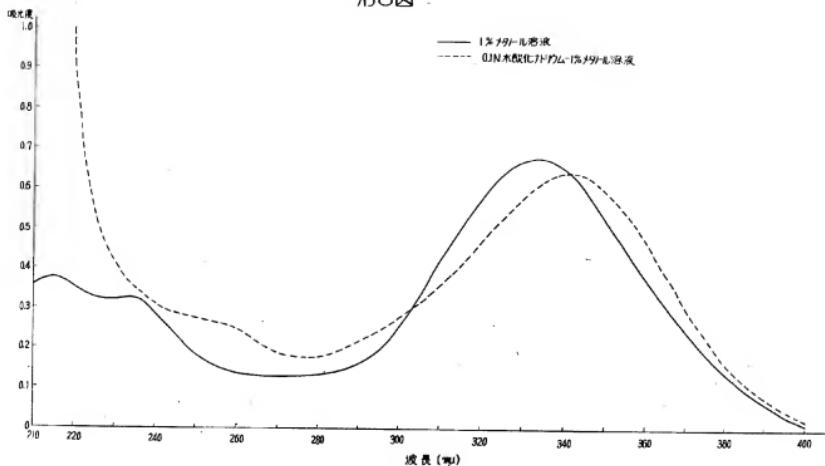




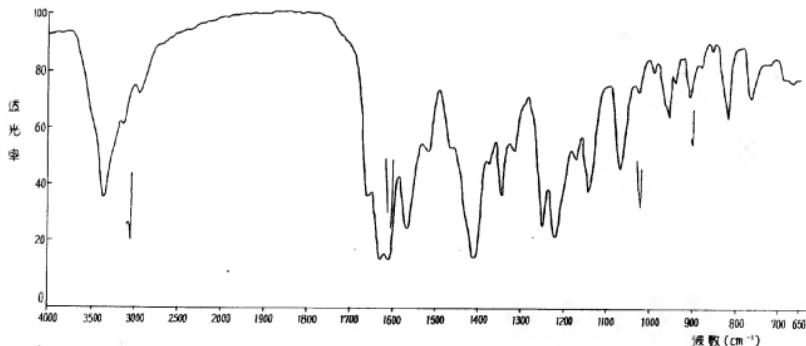
第2図



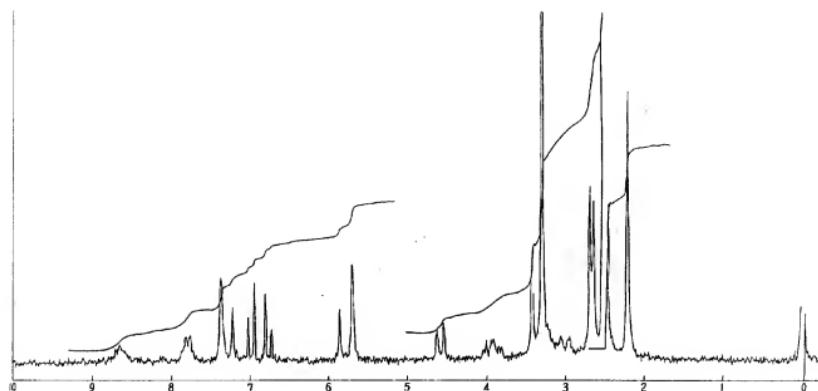
第3図



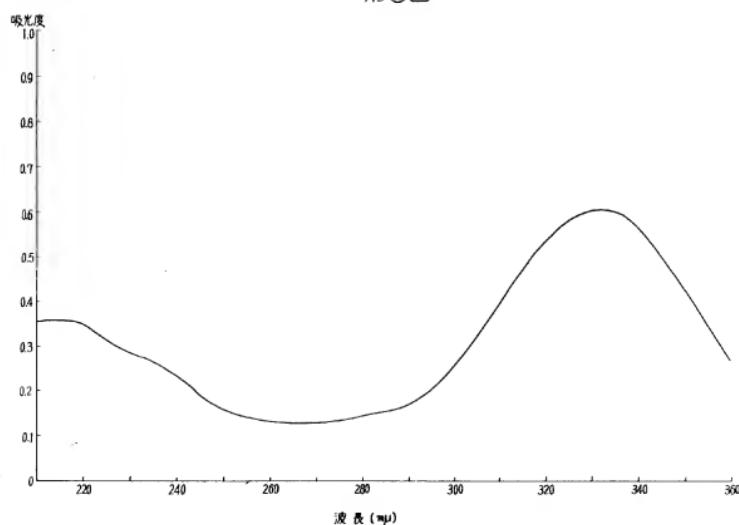
第4図



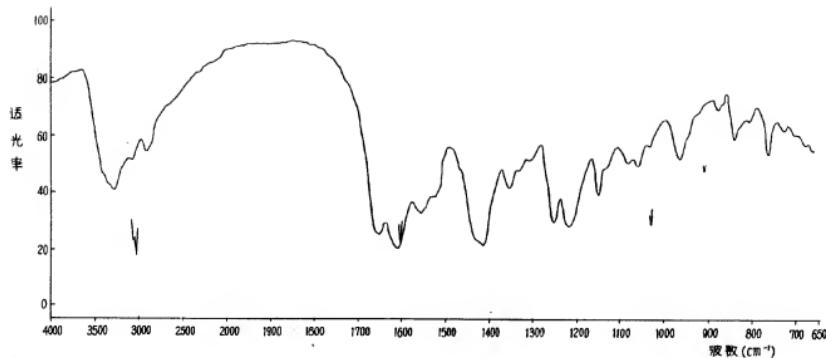
第5図



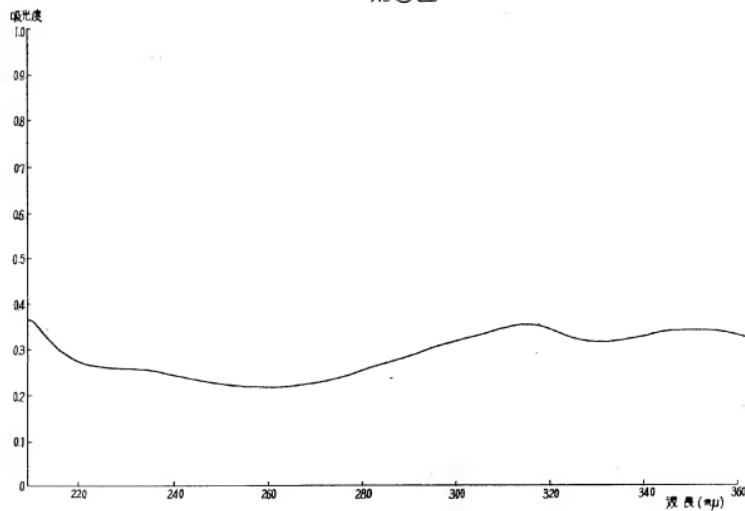
第6図



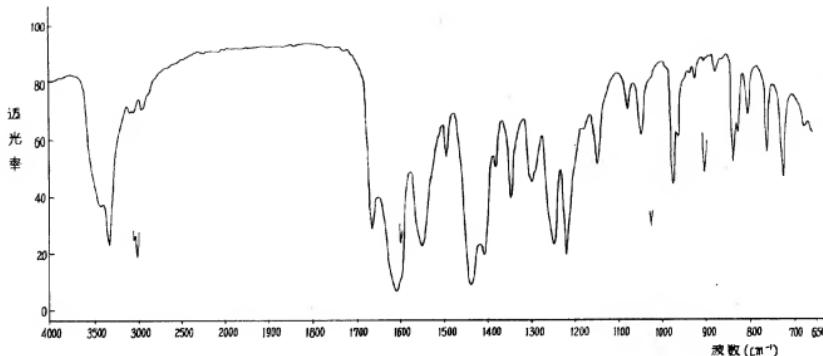
第7図



第8図



## 第9図



## 手続補正書(自発)

昭和52年3月28日

特許庁長官殿

## 1. 事件の表示

昭和51年特許願 第157479号

## 2. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスマイシン及び  
その製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名前 財團法人微生物化学研究会

## 4. 代理人

住所 東京都世田谷区新橋1丁目1番15号、物産ビル別館

(6145) 氏名

忠夫

## △補正の対象

明細書の特許請求の範囲の補正および発明の詳細な説明の補正

## △補正の内容

- (1) 明細書の特許請求の範囲を別紙の通り補正する。
- (2) 明細書の第9頁下から14行の「アンヒドロアシス」を「アンヒドロマゼス」と補正する。
- (3) 同第9頁5行の「34600」を「34,600」と補正する。
- (4) 同第9頁6行の「39,600」を「(39,600)」と補正する。
- (5) 同第10頁2行の「12.4%」の次に及び第10頁9～10行の「メタノール」の次に「.」を挿入する。
- (6) 同第10頁7行の「12.2%」を「12.24%」、「18.6%」を「18.64%」と補正する。
- (7) 同第11頁2行の「用」の次に「.」を挿入する。
- (8) 同第11頁下から14行の「ジメチルスルホキ

「シサイ」を「シメチルスルホキサイ」と補正する。

09 同第 1 ページ 6 行の「0.067」の次に「、」を挿入する。

10 同第 1 ページ 8 行の「25,700」を「25,700」と補正する。

11 同第 1 ページ 9 行の「19,300」を「19,300」と補正する。

12 同第 1 ページ下から 3 行の「観察」の前に「が」を挿入する。

13 同第 1 ページ 10 行の「550」を「5.50」と補正する。

14 同第 1 ページ下から 2 行の「311,115」を「311,115」と補正する。

15 同第 1 ページ下から 2 行の「815」を「8.15」と補正する。

16 同第 1 ページ 6 行の「アルカノール」を「アルコール」と補正する。

17 同第 1 ページ下から 2 行の「各々の」の次に「供試菌に対する」を挿入する。

18 同第 1 ページの第 1 表を次の通り補正する。

99 同第ノテ音下から部\*行の式を次の通り補正する。

$$\text{「死命率(%) = } \frac{(\text{処理マイスの生存日数})}{(\text{未処理マイスの生存日数})} \text{」}$$

00 同第ノテ音下から\*行の「ノテ音 Me」を「ノテ音 Me」と補正する。

01 同第ノテ音下から\*行の「parchment」を「Parchment」と補正する。

02 同第ノテ音下から\*行の「ISP」を「ISP」と補正する。

03 同第ノテ音下から\*行の「Yellow Maple」を「Yellow Maple」と補正する。

04 同第ノテ音末行の「～epi」を「～e pī」と補正する。

05 同第20音/行の「/ba」および「/ba」をそれぞれ「/ ba」および「/ b a」と補正する。

06 同第20音下から/行の「p i」および「n i」をそれぞれ「pi」および「ni」と補正する。

07 同第20音下から\*行の「jpi」を「j pī」と補正する。

08 同第20音下から\*行の「YellowTint～jba」を「Yellow Tint～j ba」と補正する。

09 同第20音下から\*行の「Yellow」を「Yellow」と補正する。

10 同第20音\*行の「parchment」を「Parchment」と補正する。

11 同第20音\*行の「acob」を「a cb」と補正する。

12 同第20音\*行の「jng, yellow」を「j ng, yellow」と補正する。

13 同第20音\*行の「acob」を「a cb」と補正する。

14 同第20音\*行の「pearly」を「Pearl」と補正する。

15 同第20音\*行の「(4)」を「(3)」と補正する。

16 同第20音\*行の「それがその作用は」を「れるが、その作用は」と補正する。

17 同第20音\*行の「ISP」を「ISP」と補正する。

08 同第20音/0行の「思は」を「思わ」と補正する。

09 同第20音下から\*行の「Iop」を「ISP」と補正する。

10 同第20音\*行の「被求」を「被約」と補正し、また「sai～e」を「sai～e」とそれぞれ補正する。

11 同第20音/0行の「分解」を「分解力」と補正する。

12 同第20音下から\*行の「Systemetic」を「Systematic」と補正する。

13 同第20音下=32行の「The Japomese」を「The Japanese」と補正する。

14 同第20音\*行の類3表を次表の通り補正する。

在(2)：文獻記載是(1) B.A. Wakeman 等的 *The Action of*

1941; (2) Electronmicrographs of *Actinomyces* *Ac.* / - 1674, The Institute for Acetinomycetous Diseases, New York.

INTL J SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 1992, 42, 113-114

363 W 1993

164 同第28頁末行の「ス・ペブトン」を「ス、  
ペブトン」と補正する。

66 同第 28 頁ノノ行の「streptomyces」を  
「Streptomyces」と修正する。

同第29頁2行の「不菌種」を「本菌種」と  
修正する。

46 同前 29 頁下から 2 行の「表ノ」を「表メ」  
に替へる。

欄 同第29頁下から6行の「NaCl」を「NaCl」

問 第29頁下から5行の「 $\text{CaCO}_3$  0.32%」を

即) 同第30頁紙4表中の下から5行の「グルコ

同第31頁下から8行の「 $\text{CaCO}_3 0.32\%$ 」を

四 同第33頁下から6行の「PH」を「pH」と

補正する。  
例 同第34頁下から2行および末行の「PH」を  
「pH」とそれぞれ補正する。

同様より加テ行の「米国ロームアンド・ハース社製」を「(米国ローム・アンド・ハース社製)」と修正す。

樹 同第36頁10行の「オーレオスリシン」を「オーレオスリシ」に改めた。

備 同第34頁下から3行の「脱水」の次に「又

68 同様 37 頁下から 2 行及び第 38 頁 2 行の

脚注 同第28頁\*行の「される」を「させる」と

68 同第39頁下から2行の「PH」を「pH」とする。

8) 同第 40 頁 9 行, 9 行及び 10 行の「PR」を

「pH」とそれぞれ補正する。  
同前頁6行の「1600  $\mu$ 」を「1,600  $\mu$ 」  
等と改める。

同第41頁7行および10行の「黄土色 粉」を「黄土色の粉」と修正する。

脚註 22 頁 2 行の「ヨヨニ」を「ヨヨ」と修正する。

る。

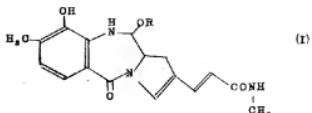
40 同表 # 2 目下から 7 行の「PH」を「pH」と補正する。

40 同表 # 2 目下から 6 行および 8 行の「3530」、「1160」、「2500」をそれぞれ「3,530」、「1,160」、「2,500」と補正する。

40 同表 # 5 目下から 7 行の「スルフォキサイド」を「スルホキサイド」と補正する。

## 上特許請求の範囲

## 1 次の一般式(I)



[式中 R は水素原子または低級アルキル基、特にメチル基またはエチル基を示す] で表わされる化合物またはこれのアンヒドロ体である特許請求の範囲第 1 項記載の化合物。

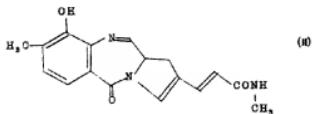
2 一般式(I)の化合物において R が水素原子で表わされるマゼスママイシン A である特許請求の範囲第 2 項記載の化合物。

3 一般式(I)の化合物において R がメチル基で表わされるマゼスママイシン B である特許請求の範囲第 3 項記載の化合物。

4 一般式(I)の化合物において R がエチル基で表わされるマゼスママイシン C である特許請求の

## 範囲第 4 項記載の化合物。

5 一般式(I)の化合物のアンヒドロ体であつて次式(II)



で表わされるアンヒドロマゼスママイシンである特許請求の範囲第 5 項記載の化合物。

6 ストレプトミセス属に属するマゼスママイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好気的に培養して、その培養物中にマゼスママイシン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスママイシン化合物を採取することを特許とする、抗生素質マゼスママイシン化合物の製造法。

7 ストレプトミセス・チャルテウス M 5461-1-6 株 (株式会社新日本カミツク号) を栄養源培地中で 25~35°C の温度範囲で好気的に培養し

て、その培養物中にマゼスママイシン化合物を生産せしめる特許請求の範囲第 6 項記載の方法。

8 マゼスママイシン化合物生産菌の培養物から水非溶性の有機溶剤で抽出によつてマゼスママイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 7 項記載の方法。

9 マゼスママイシン化合物生産菌の培養液から脱脂剤、特に活性炭または多孔質樹脂に脱脂せしめてマゼスママイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 8 項記載の方法。

10 マゼスママイシン化合物を含有する粉末を採取し、その粉末をメタノール又はメタノールを含有する混合溶媒で抽出してマゼスママイシン B を採取する特許請求の範囲第 9 項記載の方法。

11 マゼスママイシン C を採取し、非極性溶媒中で脱メタノールして、アンヒドロマゼスママイシンを採取する特許請求の範囲第 10 項又は第 11 項記載の方法。

12 アンヒドロマゼスママイシンを採取し、含水溶媒に溶解して、マゼスママイシン A を採取す

る特許請求の範囲第4項記載の方法。

(3) アンヒドロマゼスマライシンを採取し、エタノールを含有する溶液に溶解して、マゼスマライシンDを採取する特許請求の範囲第4項記載の方法。

(4) マゼスマライシンまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールまたはエタノールと反応させることから成るマゼスマライシンBまたはDの製造法。

## 手続補正書(自発)

昭和52年5月26日

特許庁長官殿

### 1. 事件の表示

昭和51年特許第157479号

### 2. 発明の名称

新制癌抗生素マゼスマライシン及びその製造方法

### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名 称 財團法人微生物化学研究会

### 4. 代理人

住所 東京都港区西新橋1丁目1番15号、物産ビル別館

(6145) 氏名 朝内忠夫

### ＊補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

### ＊補正の内容

- (1) 明細書第13頁9行の「\*J.400」を「\*J.600」と補正する。
- (2) 同第13頁下から2行の「J11.12\*」を「J11.126」と補正する。
- (3) 昭和52年3月23日差出の手続補正書第4頁下から4行の「エンテリティデジリスト」「エンテリティデイス」と補正する。
- (4) 同手続補正書第4頁下から2行の「NI-7472」を「NI-7472」と補正する。
- (5) 同手続補正書第4頁下から2行の「NI-7476」を「NI-7476」と補正する。
- (6) 同手続補正書第5頁の第3表中6～7行の「種々の培地上で気菌糸の形成なく不明」と削除し同表3～6行にわたつて第3欄中に次の記載を挿入する。

「種々の培地上で  
気菌糸の  
形成なく  
不明」

- (7) 同手続補正書第5頁第3表中の第4欄4行の「～黄茶色(I)」を「～黄茶(I)」と補正する。
- (8) 同手続補正書第5頁1～2行の記載を削除し代りに「同第5頁1～2行の「ス、ペプトン」を「ス・ペプトン」と補正する。」を挿入する。
- (9) 同手続補正書第5頁7行の「表\*」を削除し「第\*表」を挿入する。

## 手続補正書(自発)

昭和52年7月28日

特許庁長官 殿

## 5.補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

## 6.補正の内容

(1) 明細書第12頁2行の「2.05」を「2.66」と補正する。

## 1. 事件の表示

昭和51年特許願 第157479号

## 2. 発明の名称

新創性抗生物質マゼスマイシン及びその製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名称 財団法人微生物化学研究会

## 4. 代理人

住所 東京都千代田区麹町1丁目13号 住友ビル  
東京都千代田区麹町1丁目13号 住友ビル

(6145) 氏名

忠夫